Journal of Horticultural Science
https://jhs.um.ac.ir

Research Article
Vol. 36, No. 3, Fall 2022, p. 693-707

Optimization of Seed Germination, Growth Index and Photosynthetic Pigments Content of *Kelussia odoratissima* Mozaff Seedlings under Laboratory Conditions

Kh. Ahmadi[1], H. Omidi[2*] E. Soltani[3]

Received: 23-11-2021 Revised: 12-12-2021 Accepted: 27-12-2021 Available Online: 25-11-2022	**How to cite this article:** Ahmadi, Kh., Omidi, H., & Soltani, E. (2022). Optimization of Seed Germination, Growth Index and Photosynthetic Pigments Content of *Kelussia odoratissima* Mozaff Seedlings under Laboratory Conditions. *Journal of Horticultural Science 36*(3): 693-707. (In Persian with English abstract) **DOI**: 10.22067/jhs.2021.73715.1111

Introduction

Kelussia odoratissima Mozaff is a native species of Iran which is a rare and endangered species. It grows as a wild in cold and mountainous bioclimatic and is used in traditional medicine to treat various diseases such as cardiovascular disease, gastric ulcer, respiratory and intestinal inflammation. The change of status from dormancy to germination can be eliminated by using some treatments in accordance with the natural conditions of the mother base habitat. However, some physiological needs of dormant seeds can be met by scratching (mechanical and chemical), washing in running water, dry storage, cold and humid conditions, light, smoke, and plant growth regulators. The aim of this study was to investigate different strategies including pretreatment, leaching and constant germination temperature on seed germination characteristics and *Kelussia* seedling growth.

Materials and Methods

The experiment was conducted in Petri dishes at Seed Technology Laboratory of Agricultural Sciences Faculty of Shahed University. *K. odoratissima* Mozaff seeds were collected from their natural habitat in Fereydounshahr, Isfahan province in 2019.

This study was performed in the Crop Physiology and Seed Technology Laboratories of Shahed University, Faculty of Agricultural Sciences, from 23.09.2019 to 22.11.2019. The cultivation was in Petridish at constant germination temperatures after priming and leaching. The experiment was performed as a factorial experiment in a completely randomized design with three replications. Each replication included 36 Petridish and 20 *Kelussia* seeds were planted in each petri dish. Experimental factors include constant germination temperatures (1, 5, 10 and 15°C), duration of rinsing with running water at 15°C (24, 48 and 72 h) and hormone pretreatment with gibberellin (0, 250 and 500 ppm). Before applying the hormonal pretreatment and temperature, the seeds were washed in running water in such a way that seeds were placed in a strainer that was not immersed and water flowed on the seeds for the specified periods of time for this treatment. In this case, germination inhibitors were washed from the seed surface. According to the test period and laboratory conditions, the laboratory temperature could be controlled at 15 °C with a thermometer and cooling devices. Then, for hormonal pretreatment, the seeds were placed in containers containing gibberellin solution with concentrations of 0, 250 and 500 ppm and refrigerated at 4°C for 72 h. After washing the seeds, 20 seeds were placed in Petridish with a diameter of 10 cm and a height of 2 cm on Whatman filter paper No. 1 and at temperatures of 1, 5, 10 and 15°C with 16 h of light and 8 h of darkness passed. Due to the fact that germination in seeds grown at this temperature at 15°C was zero in all treatment compositions, it was excluded from statistical analysis. To analyze the data variance, the SAS 9.1 statistical software was used. The comparison of means of traits was performed using the Duncan test at 5%

1 and 2- Ph.D. Student and Associate Professor, Department of Agronomy and Plant Breeding, College of Agriculture and Medicinal Plants Research Center, Shahed University, Tehran, Iran, respectively.
(*- Corresponding Author Email: omidi@shahed.ac.ir)
3- Associate Professor of Department of Agronomy and Plant Breeding Sciences, College of AbuRaihan, University of Tehran, Tehran, Iran

probability level.

Results and Discussion

Germination traits, growth indices and physiological parameters of seedling photosynthetic pigments under the influence of leaching, temperature, gibberellin and the interactions of leaching in temperature, leaching in gibberellin, temperature in gibberellin and the combination of leaching treatment × temperature × gibberellin showed significant differences. The results showed that the optimum germination temperature was 1°C and about 54% of seeds were able to germinate at this temperature without using any pretreatment. However, pretreatment of seeds at a temperature of 1°C with gibberellin at 250 ppm and washing for 72 h increased the germination rate to 65%. It has also been shown that treatment with gibberellin at 250 ppm seedling length and gibberellin at 500 ppm improves seedling fresh and dry weight in three leaching treatments at 10°C. Chlorophyll and carotenoid content of seedlings was observed in the combination of 24 hours leaching treatment, temperature of 5°C and gibberellin priming of 500 ppm. Due to the wide variety of species of Apiaceae and also the variety of type and depth of sleep, various treatments to break dormancy and stimulate seed germination of plants of this genus have been proposed, the most important of which are wet and gibberellin. It should be noted that the germination ecology and appropriate treatments to break dormancy in different plant species, plants of the same family, same species and different ecotypes of the same species can be completely different.

Conclusion

According to the results of this study, seed treatment with 72 hours of cold water washing, 1°C and gibberellin pretreatment with a concentration of 250 ppm was able to show the highest germination percentage to achieve High germination is recommended. In addition, at 5°C under gibberellin pretreatment and leaching showed a relatively high germination percentage. Accordingly, gibberellin hormonal pretreatment at low temperatures was effective in achieving more germination under priming conditions. Is. On the other hand, a concentration of 500 ppm gibberellin increased seedling weight and photosynthetic pigments. In general, a temperature of 1°C followed by a temperature of 5°C was effective in increasing the germination of celery seeds and was able to record better results. Also, the suitable seedling growth temperature for mountain celery is 10°C and the application of Gibberellin hormonal pretreatment improved the growth characteristics of *Kelussia* seedlings.

Keywords: Chlorophyll, Germination temperature, Gibberellin, *Keluss*, Leaching

نشریه علوم باغبانی
https:// jhs.um.ac.ir

مقاله پژوهشی
جلد ۳۶، شماره ۳، پاییز ۱۴۰۱، ص. ۷۰۷-۶۹۳

بهینه‌سازی جوانه‌زنی بذر، شاخص‌های رشد و رنگدانه‌های فتوسنتزی گیاهچه کرفس کوهی در شرایط آزمایشگاهی

خدیجه احمدی[۱]- حشمت امیدی[۲*]- الیاس سلطانی[۳]

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۰۹/۰۲
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۱۰/۰۶

چکیده

کرفس کوهی (*Kelussia odoratissma* Mozaff) گونه بومی ایران است که از گونه‌های کمیاب و در معرض انقراض محسوب می‌شود. به صورت خودرو در زیست اقلیم‌های سرد و کوهستانی رشد می‌کند و در طب سنتی برای درمان بیماری‌های مختلف مانند بیماری‌های قلبی-عروقی، درمان زخم معده، تنفسی و التهاب روده کاربرد دارد. هدف از این مطالعه بررسی اثر ترکیبی دما، آبشویی و پیش تیمار بر روی جوانه‌زنی بذر گیاه دارویی کرفس کوهی است. فاکتورهای این مطالعه دما (۱، ۵، ۱۰ و ۱۵ درجه سانتی‌گراد)، آبشویی (۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت) و غلظت‌های مختلف پیش‌تیمار جیبرلین (صفر، ۲۵۰ و ۵۰۰ پی‌پی‌ام) بودند. نتایج نشان داد که دمای جوانه‌زنی بهینه یک درجه سانتی‌گراد بود و نزدیک به ۵۴ درصد بذرها بدون استفاده از هیچ گونه پیش تیماری در این دما قادر به جوانه‌زدن هستند. با این وجود، پیش تیمار بذرها با جیبرلین ۲۵۰ پی‌پی‌ام و آبشویی به مدت ۷۲ ساعت، درصد جوانه‌زنی را در دمای یک درجه‌ی سانتی‌گراد به ۶۵ درصد افزایش داد. همچنین نتایج مقایسه میانگین نشان داد که پیش‌تیمار جیبرلین ۲۵۰ پی‌ام طول گیاهچه و پیش‌تیمار جیبرلین ۵۰۰ پی‌پی‌ام وزن تر و خشک گیاهچه را در سه سطح آبشویی در دمای ۱۰ درجه سانتی‌گراد بهبود بخشید. بیش‌ترین محتوای کلروفیل و کارتنوئید گیاهچه در ترکیب تیماری آبشویی ۲۴ ساعت، دمای پنج درجه سانتی‌گراد و اعمال پیش‌تیمار جیبرلین ۵۰۰ پی‌ام مشاهده شد. برای کاهش زمان جوانه‌زنی بذور کرفس کوهی اعمال دمای مناسب جوانه‌زنی همراه با آبشویی و غلظت پایین پیش‌تیمار جیبرلین می‌تواند بهترین شرایط را برای بالاترین درصد جوانه‌زنی بذور فراهم کند. این مطالعه می‌تواند راهنمای اساسی برای برنامه‌های کشت و حفاظت از گیاه دارویی کرفس کوهی، گیاه بومی و در معرض انقراض ایران باشد.

واژه‌های کلیدی: آبشویی، دمای جوانه‌زنی، جیبرلین، کلروفیل، کلوس[۴]

مقدمه

جوامع بشری از ابتدای پیدایش با محیط اطراف خود در تماس نزدیک بوده و از محیط برای به‌دست آوردن غذا و دارو استفاده می کردند. کاربرد گیاهان داورویی در تهیه غذا و دارو با آزمایش‌های مختلف تحقق پیدا کرد و به تدریج انسان توانسته نیازهای خود را از محیط اطراف خود تأمین کند. اطلاعات گیاهان دارویی از دیرباز به تدریج نسل به نسل منتقل شده و با شکل‌گیری تمدن‌ها و فراهم شدن امکانات بیشتر، دانش بشری به تدریج کامل شده است. گیاهان دارویی تقریباً در همه فرهنگ‌ها به‌عنوان یک منبع پزشکی استفاده می‌شوند (Jamshidi-Kia *et al.*, 2018). کرفس کوهی (*Kelussia odoratissima* Mozaff.) با نام فارسی کلوس، گیاهی چندساله و معطر از تیره چتریان از گونه‌های با ارزش دارویی در منطقه زاگرس بوده که دارای اهمیت اکولوژیک و اقتصادی می‌باشد (Mozaffarian, 2007). کرفس کوهی دارای دو گروه ترکیبات اسانس و فلاونوئید می‌باشد. فلاونوئیدها بخش مهمی از ترکیبات این

۱ و ۲- به‌ترتیب دانشجوی دکتری و دانشیار گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده علوم کشاورزی و مرکز تحقیقات گیاهان دارویی، دانشگاه شاهد، تهران، ایران
(*- نویسنده مسئول: (Email: omidi@shahed.ac.ir
۳- دانشیار گروه علوم زراعی و اصلاح نباتات، پردیس ابوریحان، دانشگاه تهران، تهران، ایران

DOI: 10.22067/jhs.2021.73715.1111

4- *Keluss*

گیاه هستند که دارای اثرات ضد التهابی، ضد ویروسی، ضـد دیابـت و ضد سرطان می‌باشند (Gandomkar, 1999). به دلیل برداشت بیش از حد آن در اوایل دوره رویشی و زمان نسـبتاً زیـاد مـورد نیـاز بـرای استقرار و تولید بذر، این گیاه فرصت تجدید حیات و تولید بذر را ندارد، بسیاری از رویشگاه‌های طبیعی آن در زاگرس مرکزی از بـین رفتـه و در معرض انقراض می‌باشند (Ahmadi *et al.*, 2020). یکی از موانع عمده استفاده بهینه از گیاهان دارویی در خـارج از رویشـگاه طبیعـی، محدودیت میزان جوانه‌زنی و طـولانی بـودن خـواب بـذر آنهـا اسـت (Gupta, 2003). بذر کرفس مانند بـذر بسـیاری از گیاهـان خـانواده چتریان دارای خواب است و جوانه‌زنی آن به سختی انجام می‌شود. در واقع بذرهای گیاهان خانواده چتریان اشکال مختلفی از الگوی خـواب فیزیولوژیکی را از خود نشان می‌دهند (Etemadi *et al.*, 2010). در سال‌های اخیر تحقیقات متعددی جهت تعیین شرایط بهینه جوانه‌زنی بـذر در گیاهـان مختلـف بـه‌صـورت کـاربردی صـورت گرفتـه اسـت (Paucar-Menacho *et al.*, 2016; Slabbert *et al.*, 2014;). دما جزء معدود فاکتورهایی بوده که اثرات غیرقابل چشـم پوشـی در تمـام مراحل رشد گیـاه دارد (Zandalinas *et al.*, 2017). تعیـین دماهـای اصلی جوانه‌زنی جهت انطباق گیاه با اقلیم ضـرورت دارد و هـم‌چنـین تعیین زمان حرارتی جهت تخمین جوانه‌زنی یا سایر مراحل توسعه بـا تعیین حداقل دمای جوانه‌زنی ممکن مـی‌شـود (Durr *et al.*, 2015 ; Galindez *et al.*, 2017). بـالا بـودن درصـد، سـرعت و یکنـواختی جوانه‌زنی بذر متضمن استقرار مطلوب گیاهچه‌ها و افزایش تولید گیاه است لذا پرایمینگ بذر تکنیکی است جهت افزایش جوانه‌زنـی بـذور و به دنبال آن استقرار گیاهچه به ویـژه در شـرایط نـامطلوب مـی‌باشـد (Karim *et al.*, 2020). تغییر وضعیت از خواب به جوانه‌زنـی را مـی توان با استفاده از بعضی تیمارها متناسب با شـرایط طبیعـی رویشـگاه پایه‌های مادری برطرف کرد. این در حالی است کـه برخـی نیازهـای فیزیولوژیک بذرهای دارای خواب به کمک خراش‌دهـی (مکـانیکی و شیمیایی)، شست‌وشو در جریان آب، نگهداری خشک، شرایط سـرد و مرطوب، نور، دود و تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی (مانند اسید جیبرلیک و سیتوکینین و ...) قابل برطرف شـدن اسـت (Finch Savage and Leubner Metzger, 2006). نقش اصلی هورمون اسید جیبرلیک که بطور طبیعی طی فرآیند آبنوشی توسط جنـین تولیـد مـی‌شـود، فعـال نمودن ژن کد کننده آنزیم‌های دخیل در جوانه‌زنی بذر به‌ویـژه آنـزیم آلفا آمیلاز است و این عمل را از طریق افـزایش mRNA کـد کننـده ایـن آنـزیم انجـام مـی‌دهـد (Gonzalez-Benito *et al.*, 2004). غلظت‌های پایین جیبرلین در جوانه‌زنی و رشد گیاهچه کرفس کـوهی مؤثر است؛ همچنین بذرهای کرفس کوهی جهت غلبـه بـر خـواب و جوانه‌زنی نیاز به طی دوره سرمادهی در دمای ۴ درجه سـانتی‌گـراد را دارند (Ahmadi *et al.*, 2021). با توجه به تنوع وسیع گونه‌های تیره چتریان و هم‌چنین تنوع نوع و عمق خواب، تیمارهای گوناگونی جهت شکستن خواب و تحریک جوانه‌زنی بذر گیاهان این تیره پیشنهاد شده است، که مهم‌ترین آنها پـیش‌تیمـار هورمـونی جیبـرلین و سـرمادهی مرطوب می‌باشند. هدف از این پژوهش بررسـی راهکارهـای مختلـف اعم از پیش‌تیمار با هورمون جیبرلین، آبشویی و دمای ثابت جوانه‌زنـی بر ویژگی‌های جوانه‌زنی بذر و رشد گیاهچه کرفس بود.

مواد و روش‌ها

جمع‌آوری و آماده سازی بذور

بذرهای کرفس کوهی از رویشگاه طبیعـی آن‌هـا در مـرداد سـال ۱۳۹۸ در منطقه فریدون شهر استان اصفهان با طـول جغرافیـایی ۵۰ درجه و ۷ دقیقه و عرض جغرافیایی ۳۲ درجه و ۵۶ دقیقـه بـا ارتفـاع ۲۵۴۶ متر جمع‌آوری شدند. بذرها با آب مقطر شستشو شـدند، سـپس به مدت ۳ دقیقه در محلول هیپوکلریت سدیم ۳ درصد قرار گرفتنـد و در نهایت سه مرتبه و هر بار بـه مـدت ۵ دقیقـه بـا آب مقطـر سـرد شستشو داده شدند.

طرح آزمایش و شرایط کشت

این مطالعه در آزمایشگاه‌های فیزیولوژی گیاهان زراعی و فناوری بـذر دانشـکده علـوم کشـاورزی دانشـگاه شـاهد طـی بـازه زمـانی ۱۳۹۸/۰۷/۰۱ الی ۱۳۹۸/۹/۰۱ انجام گرفت، کشت در پتری‌دیـش بـا دماهای ثابت جوانه‌زنی بعد از اعمال پرایمینگ و آبشویی بود. آزمایش به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح پایه کاملاً تصادفی در سه تکرار اجرا شد. هر تکرار شامل ۳۶ پتری‌دیش بود و در هر پتری‌دیـش ۲۰ عـدد بذر کرفس کوهی کشت شد. فاکتورهای آزمایش شامل دماهای ثابت جوانه‌زنی (۱، ۵، ۱۰ و ۱۵ درجه سانتی‌گراد)، مدت زمان آبشویی با آب جاری و در دمای ۱۵ درجه سانتی‌گراد (۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت) و پـیش تیمار هورمون با جیبرلین (صفر، ۲۵۰ و ۵۰۰ پی‌پی‌ام) بودنـد. قبـل از اعمال پیش‌تیمار هورمونی و دما، آبشویی بذرها در آب جاری بـه ایـن صورت بود که بذرها در داخل صافی قرار گرفتند کـه حالـت غوطـه‌ور شدن نداشته باشد و آب در مدت‌های مشخص شده برای ایـن تیمـار روی بذرها جریان داشت. در این حالت مـواد بازدارنـده جوانـه‌زنـی از سطح بذور شسته می‌شد. با توجه بـه بـازه زمـانی آزمـایش و شـرایط آزمایشگاه با دما سـنج و وسـایل سرمایشـی دمـای آزمایشـگاه در ۱۵ درجه سانتی‌گراد قابـل کنتـرل بـود. سـپس بـه منظـور پـیش تیمـار هورمونی، بذرها در ظروف حاوی محلول جیبرلین با غلظت صفر، ۲۵۰ و ۵۰۰ پی‌پی‌ام و به مدت ۷۲ ساعت در دمای ۴ درجه سانتی‌گـراد در یخچال قرار گرفتنـد. پـس از شستشـوی بـذرها، ۲۰ عـدد بـذر درون پتری‌دیش با قطر ۱۰ سانتی‌متـر و ارتفـاع دو سـانتی‌متـر روی کاغـذ صافی واتمن شماره ۱ قرار گرفتند و در دماهای ۱، ۵، ۱۰ و ۱۵ درجـه سانتی‌گراد با شرایط ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ سـاعت تـاریکی منتقـل

شدند. با توجه به تاریخ شروع کشت یک مهر، پایان آزمایش در تاریخ یک آذر بود، آزمایش طی مدت دو ماه انجام گرفت. ثابت شدن جوانه‌زنی تعیین کننده پایان آزمایش بود و بعد از اتمام آزمایش اندازه گیری‌ها شروع شد.

اندازه‌گیری خصوصیات جوانه‌زنی و رشد گیاهچه

شروع جوانه‌زنی از تاریخ ۲۱ام مهر ۱۳۹۸ و تاریخ ثابت شدن جوانه‌زنی بذور در پایان روز ۳۰ام آبان ۱۳۹۸ بود. شمارش بذور جوانه‌زده، با شروع جوانه‌زنی هر روز صبح انجام شد. معیار جوانه‌زنی بذور، خروج ریشه‌چه و قابل رؤیت بودن آن (به طول حداقل یک میلی‌متر) در نظر گرفته شد. عمل شمارش بذور تا زمان اتمام جوانه زنی (به‌مدت ۳۹ روز)، به‌طور مرتب و مداوم صورت گرفت در پایان صفات طول گیاهچه، وزن تر و خشک گیاهچه، شاخص وزنی و طولی بنیه گیاهچه محاسبه گردید. صفت درصدجوانه‌زنی با استفاده از رابطه ۱ محاسبه گردید (Omidi *et al.*, 2015).

$$GP^{1} = \frac{n}{N} \times 100 \qquad (۱)$$

GP= درصد جوانه‌زنی، n = تعداد بذرهای جوانه‌زده و N = تعداد نهایی بذرهای جوانه‌زده می‌باشد. زمان تا ۵۰ درصد جوانه‌زنی از رابطه ۲ به‌دست آمد (Etemadi *et al.*, 2010).

$$T_{50} = t_i + \left[\frac{\frac{N}{2} - n_i}{n_j - n_i}\right](t_j - t_i) \qquad (۲)$$

که در این فرمول نیز ni و nj به ترتیب، تعداد تجمعی بذرهای جوانه‌زده به وسیله شمارش در زمان‌های ti و tj هستند ($n_i < \frac{N}{2} < n_j$) باشد؛ و N نیز تعداد نهایی بذرهای جوانه‌زده در آزمون می‌باشد. T_{10}، T_{25}، T_{75} و T_{90} نیز مطابق فرمول محاسبه شد و تنها ($\frac{N}{2}$) در فرمول با توجه به درصد مورد نظر تغییر کرد.

برای اندازه‌گیری و محاسبه صفات گیاهچه و بنیه بذر ابتدا از هر پتری‌دیش به صورت تصادفی پنج گیاهچه انتخاب شد و اندازه‌گیری صفت طول گیاهچه با استفاده از خط‌کش بر حسب سانتی‌متر و توزین آن‌ها با استفاده از ترازو دیجیتال AND مدل GF-300 با دقت ۰/۰۰۱ بر حسب گرم صورت گرفت. در این آزمایش، وزن خشک گیاهچه با قرار دادن نمونه‌ها در درون آون با دمای ۶۰ درجه به مدت ۴۸ ساعت تعیین گردید. شاخص‌های بنیه گیاهچه (SVI1: شاخص طولی بنیه بذر، SVI2: شاخص وزنی بنیه بذر) از رابطه ۳ و ۴ حاصل شد.

(۳)

SVI[2] (1) = درصد جوانه‌زنی × (میانگین طول ریشه‌چه + میانگین طول ساقه‌چه)

(۴)

SVI (2) =(درصد جوانه‌زنی × وزن خشک گیاهچه)

اندازه‌گیری محتوای کلروفیل و کارتنوئید

اندازه‌گیری محتوای کلروفیل و کارتنوئید از روش کاستاچ (Costache *et al.*, 2012) طبق رابطه‌های ۵، ۶، ۷ و ۸ انجام شد. به این ترتیب که ۰/۲ گرم بافت تازه برگ را با ۲۰ سی‌سی از حلال متانول با غلظت خالص به‌طور کامل عصاره‌گیری نموده، پس از ۱۵ دقیقه سانتریفوژ در دور ۱۳۰۰۰ در دقیقه آن را به حجم ۲۰ میلی‌لیتر رسانده و پس از صفر کردن دستگاه اسپکتروفتومتر UV-Vis مدل Perkin Elmer ساخت شرکت Lambda25 با متانول خالص (به عنوان شاهد) جذب عصاره حاصل در طول‌موج‌های ۶۶۵/۲، ۶۵۲/۴ و ۴۷۰ نانومتر قرائت گردید. میزان کلروفیل a، b، کل و کارتنوئید از رابطه‌های ۵، ۶، ۷ و ۸ بدست آمدند.

$$C_a\ (\mu g.ml^{-1}) = 16.72\ A_{665.2} - 9.16\ A_{652.4} \qquad (۵)$$

$$C_b\ (\mu g.ml^{-1}) = 34.09\ A_{652.4} - 15.28\ A_{665.2} \qquad (۶)$$

$$C_{(Car)}\ (\mu g.ml^{-1}) = (1000 A_{470} - 1.63\ c_a - 104.96\ c_b)/221 \qquad (۷)$$

$$C_T = Ca + Cb \qquad (۸)$$

آنالیز داده‌ها

برای تجزیه واریانس داده‌ها از نرم‌افزار آماری SAS 9.1 استفاده شد. مقایسه میانگین صفات با استفاده از آزمون چنددامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵ درصد انجام شد. در بین سطوح تیمار دمای ثابت جوانه‌زنی، جوانه‌زنی بذور کرفس کوهی در دمای ۱۵ درجه سانتی‌گراد در تمامی ترکیب‌های تیماری صفر بود، لذا از تجزیه آماری این سطح دما صرف نظر شد.

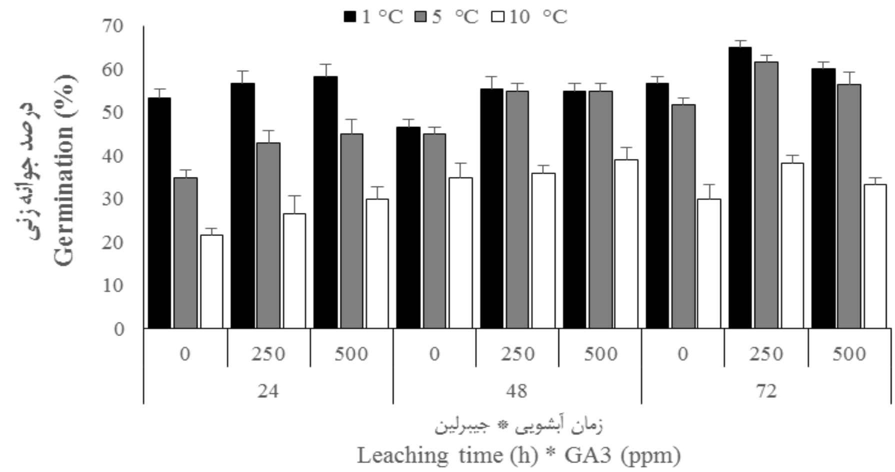
نتایج و بحث

درصد جوانه‌زنی

میزان جوانه‌زنی تحت تأثیر دمای جوانه‌زدن، آبشویی و پیش‌تیمار جیبرلین قرار گرفت، اثر سه گانه بین دما، آبشویی و پیش‌تیمار جیبرلین در سطح احتمال ۵ درصد معنی‌دار بود (جدول ۱). درصد جوانه‌زنی بذور تحت تیمارهای مختلف در دمای ۱ و ۵ درجه سانتی گراد بین ۳۵ تا ۶۵ درصد بود. روند تغییرات درصد جوانه‌زنی بذور گیاه کلوس در تیمارهای مختلف نشان داد که پیش‌تیمار هورمونی جیبرلین ۲۵۰ پی‌پی‌ام در دمای یک درجه سانتی‌گراد در تیمارهای مختلف آبشویی درصد جوانه‌زنی بالایی نشان داد و بیش‌ترین بذرهای جوانه‌-زده در تیمار ۷۲ ساعت آبشویی، پیش‌تیمار جیبرلین ۲۵۰ پی‌پی‌ام و درمای یک درجه سانتی‌گراد با ۶۵ درصد بدست آمد. در دمای ۱۰ درجه سانتی‌گراد کم‌ترین درصد جوانه‌زنی بذور مشاهده شد و در دمای بالای ۱۰ درجه سانتی‌گراد هیچ بذری از بذور کرفس کوهی

1- Germination percentage
2- Seed vigor index

قادر به جوانه‌زدن نبود (شکل ۱). به‌نظر می‌رسد افزایش مدت زمان شست شو باعث کاهش مواد بازدارنده جوانه‌زنی بذور کرفس کوهی شد و در شرایط بدون تیمار جیبرلین نیز درصد جوانه‌زنی قابل توجهی داشتند. در طبیعت، وجود مکانیسم خواب در بذر گیاهان دارویی بخصوص گیاهان تیره چتریان، باعث ایجاد یک تنوع وسیع و گسترده در میزان جوانه‌زنی و همچنین توزیع جوانه‌زنی در طول زمان می‌شود، که این ساز و کار به‌عنوان یک مزیت نسبی شانس این گیاهان برای بقاء در شرایط نامساعد افزایش می‌دهد (Sharifi *et al*., 2017). پیش‌تیمار هورمونی بذرهای زیره سبز (*Cuminum cyminum* L.) با GA_3 دارای درصد و سرعت جوانه‌زنی بالایی بودند. بنابراین، خواب فیزیولوژیکی طی ذخیره خشک (بعد از رسیدگی) یا سرمادهی برطرف می‌شود. جنین بذرهای زیره سبز پس از رسیدن کامل در دمای ۵ تا ۲۰ درجه سانتی‌گراد رشد می‌کنند (Soltani *et al*., 2019). طبق نتایج پژوهشی تیمارهای سطوح مختلف جیبرلین و نیترات پتاسیم و سطوح مختلف آبشویی در دمای زیر ۵ درجه سانتی‌گراد تأثیر معنی‌داری بر درصد جوانه‌زنی نهایی بذور آنغوزه (*Ferula assa-foetida* L.) داشتند ولی افزایش چشمگیری در سرعت جوانه‌زنی ایجاد نکردند (Pirmoradi *et al*., 2013).



شکل ۱- اثر سه‌گانه دما×آبشویی × جیبرلین بر درصد جوانه‌زنی بذور کرفس کوهی

Figure 1- The interaction effect of temperature×Leaching ×Gibberellin on germination percentage of *K. odoratissima* seeds (DMRT, *p≤0.05*)

طول گیاهچه

با توجه به نتایج جدول تجزیه واریانس اثر متقابل سه گانه تیمارهای آزمایش بر صفت طول گیاهچه تأثیر معنی‌داری در سطح احتمال یک درصد داشتند (جدول ۱). طبق نتایج طول گیاهچه کلوسه در دمای ۱۰ درجه سانتی‌گراد نسبت به دماهای ۱ و ۵ درجه سانتی گراد بیشتر بود. کاربرد پیش‌تیمار جیبرلین ۲۵۰ پی‌پی‌ام با ۲۴ ساعت آبشویی در دمای ۱۰ درجه سانتی‌گراد باعث افزایش طول گیاهچه به میانگین ۸/۷ سانتی‌متر شد. با توجه به مدت زمان ۷۲ ساعت آبشویی بذور کرفس کوهی پیش‌تیمار جیبرلین ۵۰۰ پی‌پی‌ام موجب کاهش طول گیاهچه در هر سه دمای مورد آزمایش شد (شکل ۲). نقش اصلی جیبرلین در جوانه‌زنی بذر فعال کردن بیوسنتز- mRNAهای کدکننده آنزیم‌های دخیل در جوانه‌زنی مخصوصاً آنزیم آلفا آمیلاز می‌باشد. اسید جیبرلیک با فعال کردن آنزیم‌های ریبولوز بی فسفات کربوکسیلاز و آنزیم روبیسکو که از آنزیم‌های مهم فتوسنتزی هستند موجب رشد گیاه می‌شود (Vojodi Mehrabani and Valizadeh Kamran, 2020). پرایمینگ باعث افزایش فعالیت آنزیم آلفا آمیلاز می‌شود و افزایش فعالیت این آنزیم منجر به رشد سریع‌تر گیاهچه سرخارگل (*Echinacea purpurea*) شد که بهبود استقرار گیاهچه منجر به افزایش عملکرد می‌شود (Ganji Arjenaki *et al*., 2011). طی تحقیقاتی کاربرد غلظت‌های پایین جیبرلین باعث بهبود رشد گیاهچه گیاه دارویی کرفس کوهی (Ahmadi *et al*., 2021) و گیاه دارویی تاتوره (*Datura stramonium*) (Saberi and Karimian, 2018) شد. در منابع ذکر گردیده است که بذور گیاه توس (*Betula pendula*) برای حصول صفات رویشی بهتر اعمال تیمار جیبرلین می‌تواند مفید باشد و غلظت‌های پایین جیبرلین بیش‌ترین طول ساقه- چه، ریشه‌چه و وزن تر گیاهچه حاصل شد (Payam Noor and Kordalivand, 2018). یکی از دلایل اثر مثبت محرک‌های شیمیایی مانند جیبرلین بر رشد اولیه گیاهچه‌ها احتمالاً مربوط به تعادل رسیدن نسبت هورمونی در بذر و کاهش مواد بازدارنده رشد مانند آبسزیک اسید (ABA) می‌باشد. جیبرلین‌ها سنتز آنزیم‌های هیدرولیتیکی که در زیر لایه آلئورونی قرار دارند را افزایش می‌دهند. آنزیم‌های سنتز شده به آندوسپرم انتقال یافته و سبب تجزیه غذای

ذخیره‌ای و تأمین انرژی لازم برای جوانه‌زنی و رشد می‌شوند.

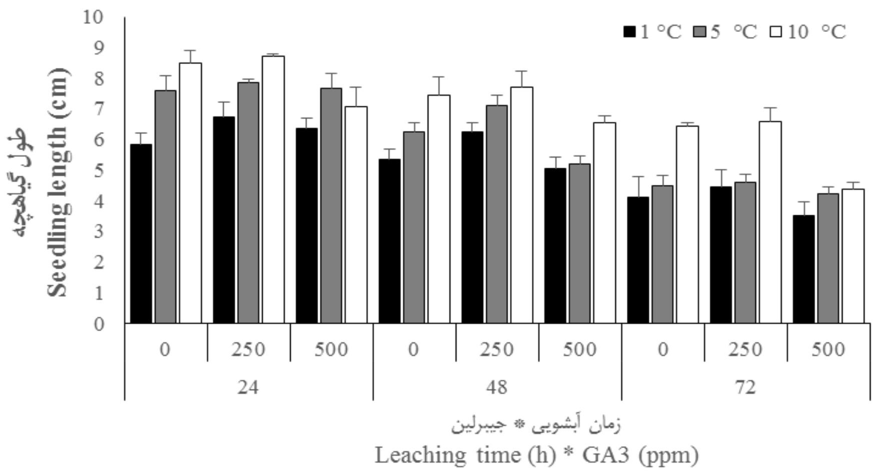
جدول ۱- تجزیه واریانس اثرات دما، آبشویی و جیبرلیک اسید بر صفات جوانه‌زنی بذور کرفس کوهی

Table 1- ANOVA for the effects of temperature, Leaching and Gibberellin on *Kelussia odoratissma* Mozaff. Characteristics of seed germination

منابع تغییرات Sources of variation	درجه آزادی Df	میانگین مربعات Mean squares					
		درصد جوانه‌زنی Germination percentage	طول گیاهچه Seedling length	وزن تر گیاهچه Seedling fresh weight	وزن خشک گیاهچه Seedling dry weight	شاخص طولی بنیه بذر Length index of seed vigor	شاخص وزنی بنیه بذر Weight index of seed vigor
دما Temperature	2	534.56**	16.94**	0.03**	0.00002**	206.32*	0.06**
آبشویی Leaching	2	1689.19**	11.41**	0.11**	0.00002**	4689.85**	0.11**
جیبرلین Gibberellin	2	1231.79**	11.45**	0.02**	0.000008**	1179.71**	0.03**
دما × آبشویی Temperature× Leaching	4	361.41**	2.90*	0.03**	0.000006**	311.55**	0.02**
دما × جیبرلین Temperature×Gibberellin	4	72.06ns	9.91**	0.03**	0.000002**	1555.49**	0.01**
آبشویی × جیبرلین Leaching ×Gibberellin	4	190.58*	5.38**	0.04**	0.000005**	623.69**	0.02**
دما × آبشویی × جیبرلین Temperature× Leaching ×Gibberellin	8	212.11**	2.28**	0.18**	0.000007**	917.77**	0.01**
خطا Error	54	52.16	0.84	0.002	0.0000002	45.69	0.001
ضریب تغییرات CV (%)	-	15.70	14.79	18.26	21.47	13.22	27.58

ns، ** و * به ترتیب عدم معنی‌داری، معنی‌داری در سطح احتمال ۱ و ۵ درصد.

ns, ** and *: non-significant, significant at $p\leq0.01$ and $p\leq0.05$, respectively.

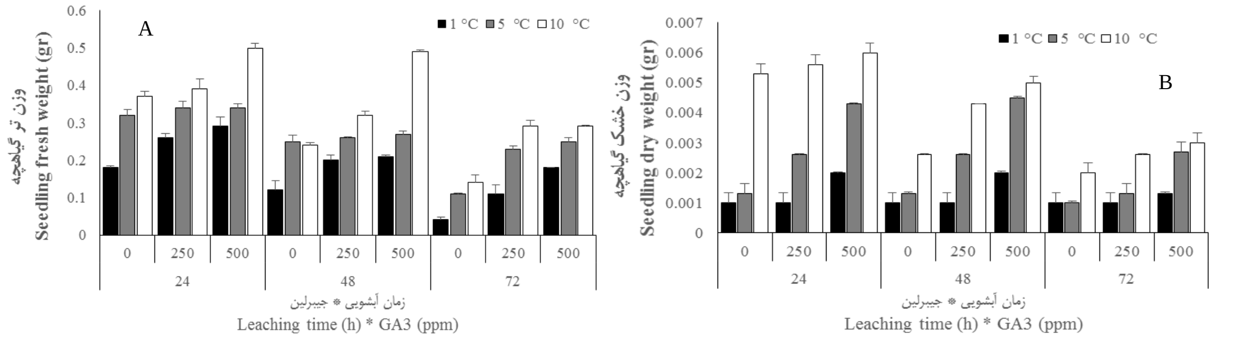


شکل ۲- اثر سه‌گانه دما× آبشویی×جیبرلین بر طول گیاهچه کرفس کوهی

Figure 2- The interaction effect of temperature× Leaching × Gibberellin on seedling length of *K. odoratissima* (DMRT, $p\leq0.05$)

وزن‌تر و خشک گیاهچه

وزن‌تر و خشک گیاهچه کلوس در سطح احتمال ۱ درصد تحت اثر دمای ثابت جوانه‌زنی، آبشویی، پیش‌تیمار جیبرلین و اثرات دوگانه و سه گانه آنها قرار گرفت (جدول ۱). وزن‌تر گیاهچه در دمای ۱۰ درجه سانتی‌گراد، ۲۴ ساعت آبشویی و ۵۰۰ پی‌پی‌ام پیش‌تیمار جیبرلین دارای ۰/۵ گرم بود. همچنین کم‌ترین وزن تر گیاهچه در دمای یک درجه سانتی‌گراد، ۷۲ ساعت آبشویی و بدون اعمال پیش تیمار هورمون جیبرلین بدست آمد. همچنان در این وضعیت تیماری نیز تغییرات معنی‌دار بوده است (شکل ۳-A). طبق نتایج مقایسه میانگین وزن خشک گیاهچه تحت تأثیر تیمارهای ترکیبی قرار گرفت و بیشتر این تغییرات را می‌توان در آبشویی ۲۴ ساعت مشاهده کرد. کم‌ترین تغییر در دمای یک درجه سانتی‌گراد می توان مشاهده کرد. ۲۴ ساعت زمان آبشویی، ۵۰۰ پی‌پی‌ام پیش‌تیمار جیبرلین و دمای ثابت ۱۰ درجه سانتی‌گراد وزن خشک گیاهچه بیش‌ترین مقدار را داشت (شکل ۳-B). به‌نظر می‌رسد دمای رشد گیاهچه‌های کرفس کوهی حدود ۱۰ درجه سانتی‌گراد باشد به دلیل رشد قابل توجه و به دنبال آن وزن گیاهچه‌های کرفس در این دما و همچنین پیش‌تیمار هورمون جیبرلین میزان تقسیم سلولی مریستم‌های ریشه اولیه را که منجر به افزایش رشد طولی می‌شوند را زیاد می‌کنند. به‌نظر می‌رسد افزایش وزن گیاهچه در ارتباط با افزایش طول گیاهچه تحت تأثیر پیش‌تیمار جیبرلین باشد. یوسفی و همکاران (Yousefi *et al.*, 2021) گزارش دادند که پرایمینگ هورمونی باعث افزایش وزن گیاهچه‌های سرخارگل (*Echinacea purpurea*) می‌شود که هم-راستا با نتایج این پژوهش است. افزایش وزن گیاهچه در اثر اعمال پیش‌تیمار، احتمالا به دلیل تحریک فعالیت‌های متابولیکی در داخل جنین می‌باشد. هم‌چنین طی پژوهشی با بررسی اثر سرمادهی مرطوب و آبشویی بر صفات رشد گیاهچه انجدان رومی از خانواده چتریان گزارش کردند افزایش در شاخص‌های رشد گیاهچه (طول گیاهچه و وزن گیاهچه) در تیمار خیساندن به مدت ۱۲ ساعت و دمای ۷ درجه سانتی‌گراد بدست آمد. این امر می‌تواند به دلیل جذب بیشتر آب توسط رویان و افزایش فعل و انفعالات رویشی باشد که سبب افزایش شاخص‌های رشد گیاهچه می‌شود (Afzaligroh *et al.*, 2018).



شکل ۳- اثر سه‌گانه دما× آبشویی × جیبرلین بر وزن تر (A) و خشک (B) گیاهچه کرفس کوهی

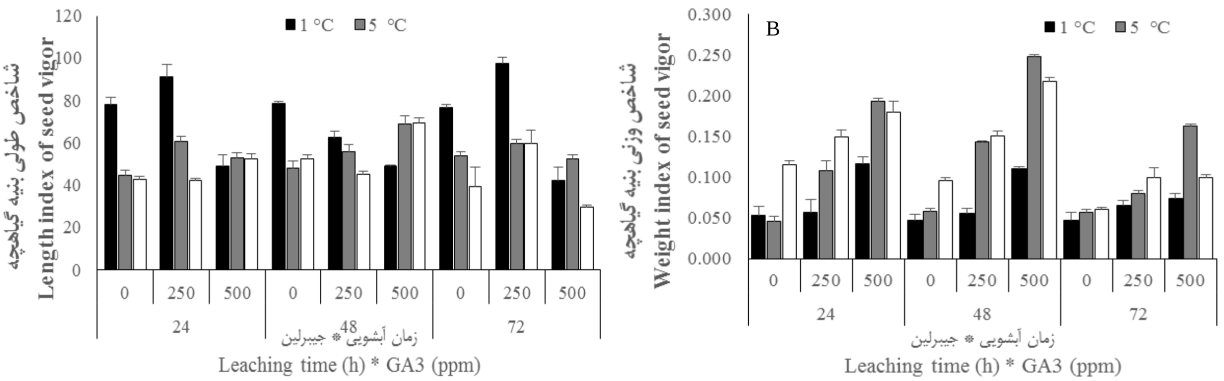
Figure 3- The interaction effect of temperature× Leaching×gibberellin on seedling fresh (A) and dry (B) weight (DMRT, *p≤0.05*)

شاخص بنیه بذر

یکی از عوامل و معیارهای قدرت بذر مقدار مواد ذخیره‌ای موجود در دانه است. بذر برای ظهور و استقرار گیاهچه‌های قوی و سالم احتیاج به انرژی دارد که باید به وسیله اکسیداسیون مواد ذخیره‌ای موجود در بذر تأمین شود. صفات شاخص طولی و وزنی بنیه بذر تحت اثرات اصلی آبشویی، دما و پیش‌تیمار جیبرلین، اثر متقابل دما در آبشویی، دما در پیش‌تیمار جیبرلین، آبشویی در پیش‌تیمار جیبرلین و دما در آبشویی و پیش‌تیمار جیبرلین در سطح احتمال یک درصد قرار گرفتند (جدول ۱). طبق نتایج مقایسه میانگین در دمای یک درجه سانتی‌گراد با مدت زمان ۷۲ ساعت آبشویی و پیش‌تیمار جیبرلین ۲۵۰ پی‌پی‌ام به ترتیب بیشترین شاخص طولی بنیه بذر بدست آمد. همچنین در دمای ۱۰ درجه سانتی‌گراد و ۷۲ ساعت آبشویی و اعمال پیش‌تیمار جیبرلین ۵۰۰ پی‌پی‌ام کم‌ترین مقدار شاخص طولی بنیه بذر مشاهده شد (شکل ۴-A). شاخص وزنی بنیه بذر تحت تأثیر ترکیب تیماری آبشویی ۷۲ ساعت، دمای جوانه‌زنی یک درجه سانتی‌گراد و پیش‌تیمار جیبرلین ۲۵۰ پی‌پی‌ام بیش‌ترین مقدار را داشت. دمای یک درجه سانتی‌گراد در اغلب سطوح ترکیب تیماری شاخص وزنی بنیه بذر بیش‌ترین داشت و کاهش مقدار شاخص وزنی بنیه بذر در دمای ۱۰ درجه سانتی‌گراد و پیش‌تیمار جیبرلین ۵۰۰ پی‌پی‌ام و دمای ۱۰ درجه سانتی‌گراد مشاهده شد (شکل ۴-B). نتایج بدست آمده از این پژوهش با تحقیق شریفی و همکاران (Sharifi *et al.*, 2017) که تأثیر پیش‌تیمار جیبرلین و سرمادهی بر روی خصوصیات جوانه‌زنی بذر، رشد گیاهچه و شاخص بنیه بذر چهار گیاه دارویی کرفس کوهی (*Kelussia odoratissma*)، زیره سیاه (*Carum carvi* L.)، آنغوزه (*Ferula assafoetida*) و باریجه (*Ferula gummosa* Boiss) را

A

مورد بررسی قرار داده‌اند مطابقت دارد. پیش‌تیمار هورمون‌های رشد از جمله جیبرلین موجب افزایش بنیه بذور گیاه دارویی می‌شود. همچنین رادیکال‌های آزاد حاصل از لیپید پراکسیداسیون به وسیله هورمون‌های رشد مهار می‌شوند (Omidi *et al.*, 2015).



شکل ٤- اثر سه‌گانه دما× آبشویی× جیبرلین بر شاخص طولی و وزنی بنیه بذر کرفس کوهی

Figure 4- The interaction effect of temperature× Leaching×gibberellin treatments on length (A) and weight (B) index of seed vigor of *K. odoratissima* (DMRT, *p≤0.05*)

جدول ۲- تجزیه واریانس اثرات دما، آبشویی و جیبرلیک اسید بر صفات جوانه‌زنی بذر کرفس کوهی

Table 2- ANOVA for the effects of temperature, Leaching and Gibberellin on *Kelussia odoratissma* Mozaff. characteristics of seed germination

منابع تغییرات Sources of variation	درجه آزادی Df	میانگین مربعات Mean squares				
		زمان تا ۱۰ درصد جوانه‌زنی T10	زمان تا ۲۵ درصد جوانه‌زنی T25	زمان تا ۵۰ درصد جوانه‌زنی T50	زمان تا ۷۵ درصد جوانه‌زنی T75	زمان تا ۹۰ درصد جوانه‌زنی T90
دما Temperature	2	1095.34**	1610.65**	2749.17**	4237.29**	5297.96**
آبشویی Leaching	2	23.28*	16.16*	7.18*	1.79*	0.28*
جیبرلین Gibberellin	2	169.68**	117.83**	52.37**	13.09**	2.09**
دما × آبشویی Temperature× Leaching	4	13.36*	9.28*	4.12*	1.03*	0.16*
دما × جیبرلین Temperature×Gibberellin	4	62.90**	43.68**	19.41**	4.85**	0.77**
آبشویی × جیبرلین Leaching ×Gibberellin	4	12.06ns	8.37ns	3.72ns	0.93ns	0.14ns
دما × آبشویی × جیبرلین Temperature× Leaching ×Gibberellin	8	6.49ns	4.51ns	2.01ns	0.50ns	0.80ns
خطا Error	54	5.62	3.90	1.73	0.43	0.06
ضریب تغییرات CV (%)	-	26.11	17.46	8.75	3.51	1.25

ns، ** و * به ترتیب عدم معنی‌داری، معنی‌داری در سطح احتمال ۱ و ۵ درصد.

ns, ** and *: non-significant, significant at $p\leq0.01$ and $p\leq0.05$, respectively

T10, T25, T50, T75 and T90: time required to obtain 10, 25, 50, 75 and 90% of geminated seeds expressed in hours, respectively.

زمان تا ۱۰، ۲۵، ۵۰، ۷۵ و ۹۰ درصد جوانه‌زنی

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثر اصلی تیمارهـای آبشـویی،

دمای جوانه‌زنی و پیش‌تیمار جیبرلین بر زمان تا ۱۰، ۲۵، ۵۰، ۷۵ و ۹۰ درصد جوانه‌زنی در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار شد (جدول ۲). در بذور کلوس، بذرهای پرایم شده با غلظت ۲۵۰ پی‌پی‌ام از بذرهای پرایم نشده و پرایم شده با غلظت ۵۰۰ پی‌پی‌ام زودتر به ۱۰ درصد جوانه‌زنی رسیدند و در نتیجه زمان رسیدن تا ۲۵، ۵۰، ۷۵ و ۹۰ درصد جوانه‌زنی در بذرهای پرایم شده با غلظت ۲۵۰ پی‌پی‌ام و همچنین در دمای ۱۰ درجه سانتی‌گراد سریع‌تر اتفاق افتاد (جدول ۳). در مدت زمان ۴۸ ساعت آبشویی و دمای ۱۰ درجه سانتی‌گراد بذور کلوس زودتر در مدت زمان تا ۱۰، ۲۵، ۵۰، ۷۵ و ۹۰ درصد جوانه‌زنی رسیدند، و به دنبال آن نیز در تیمارهای ۷۲ و ۲۴ ساعت آبشویی و در همین دمای ۱۰ درجه سانتی‌گراد نیز مشاهده شد (جدول ۴). زمان رسیدن به ۵۰ درصد جوانه‌زنی یک پارامتر مهم برای تعیین ویگور و همگنی جوانه‌زنی در بذرهایی است که T_{50} کمتری را نشان می‌دهند (Nawaz *et al.*, 2013). در این آزمایش تیمار بذرها با آبشویی به مدت ۷۲ و ۲۴ ساعت و همچنین پرایم بذور با غلظت ۲۵۰ پی‌پی‌ام جیبرلین و قرار دادن در دمای یک و پنج درجه سانتی‌گراد با توجه به ثبت کمترین T_{50} و همچنین نشان دادن کم‌ترین زمان تا رسیدن به ۱۰، ۲۵، ۷۵ و ۹۰ درصد جوانه‌زنی، برای رسیدن به ویژگی‌های جوانه‌زنی بهتر و نهایتا استقرار بهتر محصول، قابل توصیه خواهند بود.

جدول ۳- اثر دما و جیبرلین بر صفات جوانه‌زنی

Table 3- Comparison of the average effect of temperature and Gibberellin on germination traits

دما **Temperature**	جیبرلین **Gibberellin**	زمان تا ۱۰ درصد جوانه‌زنی **T10**	زمان تا ۲۵ درصد جوانه‌زنی **T25**	زمان تا ۵۰ درصد جوانه‌زنی **T50**	زمان تا ۷۵ درصد جوانه‌زنی **T75**	زمان تا ۹۰ درصد جوانه‌زنی **T90**
1°C	0	12.63bc	15.53bc	20.35bc	25.17bc	28.07bc
	250 ppm	10.14d	13.45d	18.96d	24.48d	27.79d
	500 ppm	8.73d	12.27d	18.18d	24.09d	27.63d
5°C	0	12.69bc	15.58bc	20.38bc	25.19bc	28.07bc
	250 ppm	9.22d	16.68d	18.45d	24.22d	27.69d
	500 ppm	10.88cd	14.07cd	19.38cd	24.69cd	27.87cd
10°C	0	14.70ab	17.25ab	21.50ab	25.75ab	28.30ab
	250 ppm	15.28a	17.73a	21.82a	25.91a	28.36a
	500 ppm	14.69ab	17.24ab	21.49ab	25.74ab	28.29ab

در هر ستون میانگین‌های دارای حروف مشترک تفاوت معنی‌داری با هم ندارند (آزمون دانکن در سطح احتمال ۵٪).

The same letters among cultivars within the same column are not significantly different (Duncan test at 5% significant level).

جدول ٤- اثر دما و آبشویی بر صفات جوانه‌زنی

Table 4- Comparison of the average effect of temperature and Leaching on germination traits

دما **Temperature**	آبشویی **Leaching**	زمان تا ۱۰ درصد جوانه‌زنی **T10**	زمان تا ۲۵ درصد جوانه‌زنی **T25**	زمان تا ۵۰ درصد جوانه‌زنی **T50**	زمان تا ۷۵ درصد جوانه‌زنی **T75**	زمان تا ۹۰ درصد جوانه‌زنی **T90**
1°C	24 h	11.50b	14.58b	19.72b	24.86b	27.94b
	48 h	13.52ab	16.26ab	20.84ab	25.42ab	28.16ab
	72 h	6.48c	10.40c	16.93c	23.46c	27.38c
5°C	24 h	14.34a	16.95a	21.30a	25.65a	28.26a
	48 h	13.46ab	16.22ab	20.81ab	25.40ab	28.16
	72 h	5.00c	9.16c	16.11c	23.05c	27.38c
10°C	24 h	14.67a	17.23a	21.48a	25.74a	28.29a
	48 h	15.13a	17.61a	21.74a	25.87a	28.34a
	72 h	14.86a	17.38a	21.59a	25.79a	28.31a

در هر ستون میانگین‌های دارای حروف مشترک تفاوت معنی‌داری با هم ندارند (آزمون دانکن در سطح احتمال ۵٪).

The same letters among cultivars within the same column are not significantly different (Duncan test at 5% significant level).

محتوای کلروفیل

صفات فیزیولوژیکی رنگیزه‌های فتوسنتزی گیاهچه شامل

کلروفیل a، کلروفیل b و کلروفیل کل تحت تأثیر آبشویی، دما، پیش تیمار جیبرلین و اثرات متقابل آبشویی در دما، آبشویی در پیش‌تیمار جیبرلین، دما در پیش‌تیمار جیبرلین و ترکیب تیماری آبشویی × دما × پیش‌تیمار جیبرلین تفاوت معنی‌داری در سطح ۱ درصد نشان دادند (جدول ۵). با توجه به ترکیب تیماری آبشویی، دما و جیبرلین، محتوای کلروفیل a (با میانگین ۲/۲۶ میکروگرم بر میلی‌لیتر) در مدت زمان ۲۴ ساعت آبشویی، دمای ۵ درجه سانتی‌گراد و غلظت ۵۰۰ پی‌پی‌ام بیش‌تر شد و در تیمار ۴۸ ساعت آبشویی و دمای ۱۰ درجه سانتی‌گراد در عدم کاربرد پیش‌تیمار جیبرلین کاهش یافت (شکل ۵–A). مقایسه میانگین اثر برهمکنش آبشویی، دما و پیش‌تیمار جیبرلین بر محتوای کلروفیلb نشان داد که، تیمار آبشویی به مدت ۲۴ ساعت، دمای ۵ درجه‌ی سانتی‌گراد در پیش‌تیمار جیبرلین با غلظت ۵۰۰ پی‌پی‌ام محتوای کلروفیلb (با میانگین ۵/۱۱ میکروگرم بر میلی‌لیتر) بافت برگ افزایش یافت و در عدم اعمال جیبرلین اثر کاهشی داشت (شکل ۵–B). آن‌چه از نتایج مقایسه میانگین ترکیب تیماری آبشویی، دما و پیش‌تیمار جیبرلین، بدست آمد حاکی از آن بود که، افزایش محتوای کلروفیل کل (با میانگین ۷/۳۷ میکروگرم بر میلی‌لیتر) با افزایش غلظت پیش‌تیمار جیبرلین در غلظت ۵۰۰ پی‌پی‌ام بیش‌تر شد و در عدم کاربرد پیش‌تیمار مقدار آن کاهش یافت (شکل ۵–C). پرایمینگ بذر ممکن است در مراحل اول رشد باعث افزایش سرعت جوانه‌زنی و رشد گیاه شده و سطح برگ را افزایش داده و افزایش سطح برگ منجر به فتوسنتز بیشتر در مراحل اولیه شده و مواد فتوسنتزی کافی نیز اجازه رشد بیشتر را به بوته می‌دهد (Rostami *et al*., 2018). طبق یافته‌های عباسپور و رضایی (Abbaspour and Rezaei, 2015) تیمار بذری جیبرلین موجب افزایش محتوای کلروفیل a، b و کل گیاهچه‌های گیاه دارویی بادرشبو شد. هم‌چنین رستمی و همکاران (Rostami *et al*., 2018) گزارش دادند که تیمارهای مختلف پرایمینگ بذر موجب افزایش محتوای رنگیزه‌های فتوسنتزی گیاه دارویی ریحان شد. افزایش رنگدانه‌های فتوسنتزی در گیاهان حاصل از پرایمینگ نتیجه پویایی و اثر محافظتی آن بر فتوسنتز، شاخص کلروفیل و رنگدانه‌های فتوسنتزی در گیاهان است (EL-Tayeb, 2005).

محتوای کارتنوئید

نتایج جدول تجزیه واریانس به دست آمده حاکی از معنی‌دار بودن اثر آبشویی، دما، پیش‌تیمار جیبرلین و اثر متقابل دوگانه و سه گانه آن‌ها بر محتوای کارتنوئید در سطح احتمال ۱ درصد می‌باشد (جدول ۴).

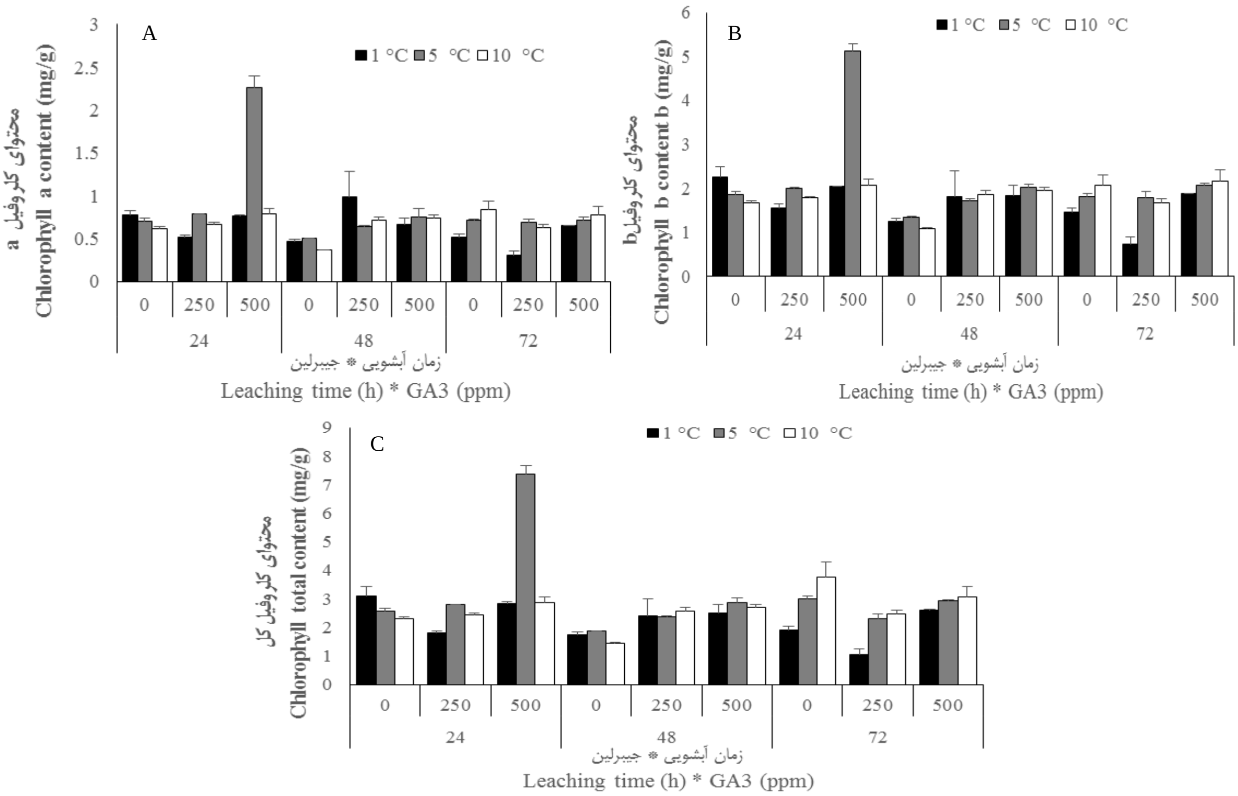
جدول ۵- تجزیه واریانس اثرات دما، آبشویی و جیبرلیک اسید بر محتوی رنگدانه‌های فتوسنتزی گیاهچه کرفس کوهی

Table 5- ANOVA for the effect of temperature, Leaching and Gibberellin on photosynthetic pigment contents of *Kelussia odoratissma* Mozaff.Seedlings

منابع تغییرات Sources of variation	درجه آزادی Df	محتوای کلروفیل a Chlorophyll a content	محتوای کلروفیل b Chlorophyll b content	محتوای کلروفیل کل Total chlorophyll content	محتوای کارتنوئید Carotenoid content
دما Temperature	2	0.30**	1.59**	3.40**	3589.63**
آبشویی Leaching	2	0.46**	2.92**	5.15**	6218.43**
جیبرلین Gibberellin	2	0.65**	3.85**	7.60**	9498.80**
دما×آبشویی Temperature×Leaching	4	0.32**	1.10**	3.04**	5328.30**
دما × جیبرلین Temperature×Gibberellin	4	0.31**	1.70**	3.95**	8545.90**
آبشویی × جیبرلین Leaching×Gibberellin	4	0.39**	1.39**	3.89**	8418.34**
دما × آبشویی × جیبرلین Temperature×Leaching×Gibberellin	8	0.24**	1.03**	2.25**	4327.99**
خطا Error	54	0.007	0.084	0.31	575.14
ضریب تغییرات CV (%)	-	11.80	15.36	20.84	22.65

ns، ** و * به ترتیب عدم معنی‌داری، معنی‌داری در سطح احتمال ۱ و ۵ درصد.

ns, ** and *: non-significant, significant at $p\leq0.01$ and $p\leq0.05$, respectively.



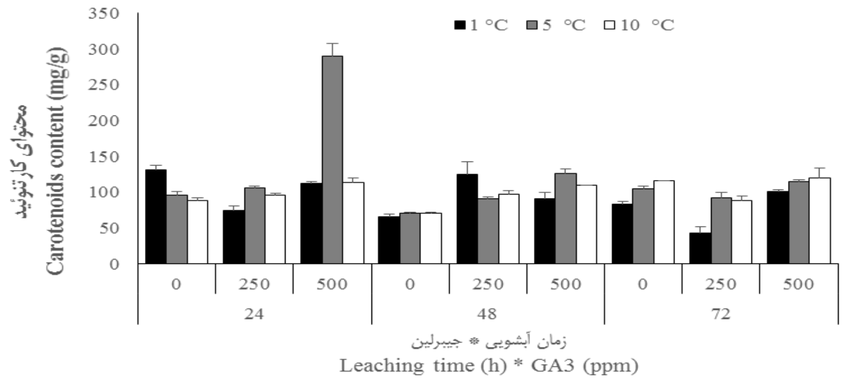
شکل ۵- اثر سه‌گانه دما× آبشویی × جیبرلین بر محتوای کلروفیل a (A)، کروفیل b (B) و کلروفیل کل (C) گیاهچه کرفس کوهی

Figure 5- The interaction effect of temperature× Leaching ×Gibberellin on chlorophyll a (A), chlorophyll b (B), and total chlorophyll (C) content of *K. odoratissima* (DMRT, *p≤0.05*)

محتوای کارتنوئید در شرایط تیمار ۲۴ ساعت آبشویی، دمای ۵ درجه سانتی‌گراد و پیش‌تیمار جیبرلین (۵۰۰ پی‌پی‌ام) دارای بیش‌ترین مقدار با میانگین ۴/۷۹ میکروگرم بر میلی‌لیتر وزن تر برگ بود. و در غلظت ۲۵۰ پی‌پی‌ام کم‌ترین محتوای کارتنوئید با میانگین ۴۳/۴۲ میکروگرم بر میلی‌لیتر مشاهده می‌شود. افزایش شدت غلظت پیش تیمار جیبرلین باعث افزایش محتوای کارتنوئید شد (شکل ۶). مطابق با این آزمایش کاربرد پیش‌تیمار هورمون جیبرلین به عنوان پیش‌تیمار موجب افزایش در محتوای کارتنوئید گیاهچه بادرشبو شد (Abbaspour and Rezaei, 2015).

جیبرلین می‌تواند با تأثیر بر ژن‌های کد کننده مسیر بیوسنتز ژرانیل پیروفسفات سنتز کارتنوئیدها را تحت تأثیر قرار دهد (Shaddad *et al*., 2013). کارتنوئیدها گیاهی به‌عنوان رنگدانه‌های فرعی فتوسنتزی، نقش حفاظت کننده علیه اکسیداسیون نوری دارند. حضور و افزایش تدریجی آنها با افزایش ظرفیت دفاع آنتی‌اکسیدانی برگ، باعث کاهش رادیکال‌های آزاد تولید شده در برگ شده و از این طریق آسیب به مراکز واکنشی و غشاءها کاهش می‌یابد. از طرفی کارتنوئیدها از جمله سیستم‌های دفاعی هستند که بتدریج و با بلوغ برگ، جایگزین سیستم دفاعی آنتوسیانینی برگ جوان می‌شوند (Chaparzadeh *et al*., 2013).

طبق یافته‌های نوروزیان و همکاران (Nowruzian *et al*., 2017) دما بر شاخص‌های جوانه‌زنی بذر و رشد گیاهچه آنغوزه تأثیر معنی‌داری داشت. به‌طوری که دماهای پایین باعث افزایش درصد و سرعت جوانه‌زنی شد و دماهای بالا منجر به افزایش و بهبود رشد گیاهچه شد. تیمار سرمادهی با افزایش تقسیم سلولی و دیگر فعالیت های متابولیکی، باعث افزایش طول ساقه‌چه و ریشه‌چه می‌شود که خود از دلایل افزایش بنیه بذر است. سرمادهی بر فعالیت‌های فیزیولوژیکی بذر مؤثر است و از طرفی اسید جیبرلیک، باعث افزایش درصد جوانه‌زنی و طول گیاهچه و در نهایت بنیه بذر می‌شود (Golmohamdzadeh *et al*., 2015). با توجه به تنوع وسیع گونه های تیره چتریان و همچنین تنوع نوع و عمق خواب، تیمارهای گوناگونی جهت شکستن خواب و تحریک جوانه‌زنی بذر گیاهان این تیره پیشنهاد شده است که مهم‌ترین این تیمارها به سرمادهی مرطوب و جیبرلیک می‌باشند. نکته‌ای که باید بدان توجه داشت این است که اکولوژی جوانه‌زنی و تیمارهای مناسب جهت شکستن خواب در گونه‌های گیاهی مختلف، گیاهان هم‌خانواده، گونه‌های هم‌جنس و اکوتیپ‌های گوناگون از یک گونه نیز می‌توانند کاملاً متفاوت باشد (Omidi *et al*., 2015).



شکل ٦- اثر سه‌گانه دما× آبشویی × جیبرلین بر محتوای کارتنوئید گیاهچه کرفس کوهی

Figure 6- The interaction effect of temperature×Leaching ×gibberellin on carotenoid content of *K. odoratissima* seedlings (DMRT, *p≤0.05*)

نتیجه‌گیری

با توجه به نتایج حاصل از این پژوهش، تیمار بذرها با مدت زمان ۷۲ ساعت آبشویی با آب سرد، دمای یک درجه سانتی‌گراد و پیش تیمار جیبرلین با غلظت ۲۵۰ پی‌پی‌ام توانست بالاترین درصد جوانه‌زنی را نشان دهد که برای رسیدن به جوانه‌زنی بالا قابل توصیه است. علاوه بر این، در دمای پنج درجه سانتی‌گراد نیز تحت پیش تیمار جیبرلین و آبشویی درصد جوانه‌زنی نسبتاً بالایی را نشان داد بر این اساس پیش‌تیمار هورمونی جیبرلین و در دمای پایین در رسیدن به جوانه‌زنی بیشتر در شرایط پرایمینگ مؤثر می‌باشد. از طرفی غلظت ۵۰۰ پی‌پی‌ام جیبرلین موجب افزایش در وزن گیاهچه و رنگیزه‌های فتوسنتزی را در پی داشت. به طور کلی دمای یک درجه‌ی سانتی‌گراد و به دنبال آن دمای پنج درجه‌ی سانتی‌گراد برای افزایش جوانه‌زنی بذور کرفس کوهی مؤثر واقع شد و توانست نتایج مطلوب‌تری را ثبت کند. همچنین دمای مناسب رشد گیاهچه برای کرفس کوهی ۱۰ درجه سانتی‌گراد می‌باشد و کاربرد پیش‌تیمار هورمونی جیبرلین موجب بهبود ویژگی‌های رشد گیاهچه‌های کرفس کوهی شد.

سپاسگزاری

نویسندگان بر خود لازم می‌دانند از مسئولین دانشکده علوم کشاورزی، آزمایشگاه فیزیولوژی گیاهان زراعی، آزمایشگاه فناوری بذر و آزمایشگاه مرکزی باغبانی دانشگاه شاهد تشکر و قدردانی نمایند.

منابع

1- Abbaspour, H., & Rezaei, H. (2015). Effects of gibberellic acid on Hill reaction, photosynthetic pigment and phenolic compounds in Moldavian dragonhead (*Dracocephalum moldavica* L.) in different drought stress levels. *Journal of Plant Research (Iranian Journal of Biology) 27*(5): 893-903. (In Persian with English abstract)

2- Afzaligroh, S., Mahdinezhad, N., Azadghojehbiglo, H., & Salarnia, N. (2018). The effect of chilling and leaching in removing dormancy the seeds of Lovage (*Levisticum officinale* KOCH). *Journal of Seed Research 8*(1): 60-68. https://doi.org/20.1001.1.22520961.1397.8.26.6.8.

3- Ahmadi, K., Omidi, H., Amini, Dehaghi, M., & Naghdi Badi, H.A. (2020). Review on the botanical, phytochemical and pharmacological characteristics of *Kelussia odoratissima* Mozaff. *Journal of Medicinal Plants 18*(72): 30-45. https://doi.org/10.29252/jmp.4.72.S12.30.

4- Ahmadi, K., Omidi, H., Amini Dehaghi, M., & Soltani, E. (2021). Evaluation of dormancy breaking treatments on seed germination and soluble compounds of *Kelussia odoratissima* Mozaff. seedling. *Plant Physiology Reports 26*(3): 513-525. https://doi.org/10.1016/S0076-6879(84)05016-3.

5- Chaparzadeh, N., Rahimpourshafaii, L., Dolati, M., & Barzegar, A. (2013). Age dependent changes of pigments in Rosa hybrid. *Journal of Plant Research (Iranian Journal of Biology) 26*(3): 281-289. (In Persian with English abstract)

6- Costache, M.A., Campeanu, G. & Neata, G. (2012). Studies concerning the extraction of chlorophyll and total carotenoids from vegetables. *Romanian Biotechnological Letters 17*(5): 7702-7708.

7- Durr, C., Dickie, J.B., Yang, X.Y., & Pritchard, H.W. (2015). Ranges of critical temperature and water potential values for the germination of species worldwide: contribution to a seed trait database. *Agricultural and Forest*

Meteorology 200: 222-232.

8- EL-Tayeb, M.A. (2005). Response of barley grains to the interactive effect of salinity and salicylic acid. *Plant Growth Regulation* 3: 215-225. https://doi.org/10.1007/s10725-005-4928-1.

9- Etemadi, N., Haghighi, M., Nikbakht, A., & Zamani, Z. (2010). Methods to promote germination of *Kelussia odoratissima* Mozaff., an Iranian endemic medicinal plant. *Herba Polonica* 56: 21-28.

10- Farooq, M., Basra, S.M.A., Ahmad, N., & Hafeez, K. (2005). Thermal hardening: a new seed vigor enhancement tool in rice. *Journal of Integrative Plant Biology 47*(2): 187-193. https://doi.org/10.1111/j.1744-7909.2005.00031.x.

11- Finch Savage, W.E., & Leubner Metzger, G. (2006). Seed dormancy and the control of germination. *New Phytology* 171: 501–523.

12- Galindez, G., Seal, C.E., Daws, M.I., Lindow, L., Ortega‐Baes, P., & Pritchard, H.W. (2017). Alternating temperature combined with darkness resets base temperature for germination (Tb) in photoblastic seeds of *Lippia* and *Aloysia* (Verbenaceae). *Plant Biology 19*(1): 41-45. https://doi.org/doi/abs/10.1111/plb.12449.

13- Gandomkar, M. (1999). Phytochemical study of cereal escape oil. Ph.D., Faculty of Pharmacy, Tehran University of Medical Sciences. Tehran. Iran. (In Persian)

14- Ganji Arjenaki, F., Amini Dehaghi, M., & Jabbari, R. (2011). Effects of priming on seed germination of marigold (*Calendula officinalis*). *Advances in Environmental Biology* 5: 276–280.

15- Golmohamdzadeh, S., Zaefarian, F., & Rezvani, M. (2015). Effects of some chemical factors, prechilling treatments and interactions on the seed dormancy breaking of two Papaver species. *Weed Biology and Management 15*(1): 11-19. https://doi.org/doi/10.1111/wbm.12056.

16- Gonzalez-Benito, M., Albert, E., Iriondo, M.J., Varela, J.M., & Perez-Garca, F. (2004). Seed germination of four thyme species after conservation at low temperatures at several moisture contents. pp. 247-254.

17- Gupta, V. (2003). Seed germination and dormancy breaking techniques for indigenous medicinal and aromatic plants. *Journal of Medicinal and Aromatic Plants Science* 25: 402–407.

18- International Seed Testing Association (ISTA), (2010). *International rules for seed testing*, Bassersdorf, Switzerland.

19- Jamshidi-Kia, F., Lorigooini, Z., & Hossein Amini-Khoei, H. (2018). Medicinal plants: Past history and future perspective. *Journal Herbmed Pharmacology 7*(1): 1-7. https://doi.org/10.15171/jhp.2018.01.

20- Karim, M.N., Sani, M.N.H., Uddain, J., Azad, M.O.K., Kabir, M.S., Rahman, M.S., Choi, KY., & Naznin, M.T. (2020). Stimulatory effect of seed priming as pretreatment factors on germination and yield performance of yard long bean (*Vigna unguiculata*). *Horticulturae 6*(4): 104.

21- Mozaffarian, V. (2007). *Umbelliferae: Flora of Iran fundamentals of analytical chemistry*. Grupo Editorial Norma. Tehran. Iran. 1072p. (In Persian)

22- Nawaz, A., Amjad, M., Khan, S.M., Afzal, I., Ahmed, T., Iqbal, Q., & Iqbal, J. (2013). Tomato seed invigoration with cytokinins. *Journal of Animal and Plant Sciences 23*(1): 121-128.

23- Nowruzian, A., Masoumian, M., Ebrahimi, M.A., & Bakhshi khaniki, G.R. (2017). Effect of breaking dormancy treatments on germination of *Ferula assa-foetida* seed. *Iranian Journal of Seed Research 3*(2): 155-169. (In Persian with English abstract). https://doi.org/10.29252/yujs.3.2.155.

24- Omidi, H., Naghdi Badi, H.A., & Jafarzadeh, L. (2015). *Seeds of medicinal plants and crops*. Shahed University. pp: 454. (In Persian)

25- Paucar-Menacho, L.M., Martinez-Villaluenga, C., Duenas, M., Frias, J., & Penas, E. (2016). Optimization of germination time and temperature to maximize the content of bioactive compounds and the antioxidant activity of purple corn (*Zea mays* L.) by response surface methodology. *LWT-Food Science and Technology* 76: 236-244.

26- Payam Noor, V., & Kordalivand, A. (2018). The effect of different seed dormancy breaking treatments on germination and primary functions of *Betula pendula*. *Plant Research* 29: 309–318.

27- Pirmoradi, M., Omidbaigi, R., Naghavi, M., Baghizadeh, A., & Yadollahi, A. (2013). Effect of elevation and different treatments on Asafetida (*Ferula assa-foetida* L.) seed germination. *Iranian Journal of Horticultural Science 43*(4): 461-471. (In Persian with English abstract). https://doi.org/10.22059/ijhs.2012.29380.

28- Rostami, G., Moghaddam, M., Narimani, R., & Mehdizadeh, L. (2018). The effect of different priming treatments on germination, morphophysiological, and biochemical indices and salt tolerance of basil (*Ocimum basilicum* L. cv. Keshkeni Levelou). *Environmental Stresses in Crop Sciences 11*(4): 1107-1123. https://doi.org/10.22077/ESCS.2018.1072.1213.

29- Saberi, M., & Karimian, V. (2018). Influence of chemical stimulants on improvement of growth, support and retrofit components of the medicinal plant *Datura Stramonium* under stress with allelopathic compounds *Eucalyptus camaldulensis*. *Pasture* 12: 401–410.

30- Shaddad, M.A.K., Abd El- Samad, M., & Mostafa, D. (2013). Role of gibberellic acid (GA_3) in improving salt stress tolerance of two wheat cultivars. *International Journal of Plant Physiology and Biochemistry 5*(4): 50-57. https://doi.org/20.1001.1.24763780.1395.3.3.1.9.

31- Sharifi, H. Nemati, A., & Gerdakaneh, M. (2017). Breaking seed dormancy and improve germination of four

medicinal species of apiaceae under gibberellic acid and prechilling treatments. *Iranian Journal of Seed Science and Research 4*(3): 27-38. (In Persian with English abstract). https://doi.org/10.22124/JMS.2017.2505.

32- Sharifi, H., Khajeh Hosseini, M., & Rashed Mohassel, M.H. (2015). Study of seed dormancy in seven medicinal species from Apiaceae. *Iranian Journal Seed Research* 2: 25-36. (In Persian with English abstract). https://doi.org/10.29252/yujs.2.1.25.

33- Slabbert, M.M., Motsa, M. & Van Averbeke, W. (2014). *Germination of selected African leafy vegetables in response to different dormancy pre-sowing treatments*. In: XXIX International Horticultural Congress on Horticulture: Sustaining Lives, Livelihoods and Landscapes (IHC2014). 1102: 75-82. https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2015.1102.8.

34- Soltani, E., Mortazavian, S.M.M., Faghihi, S., & Akbari, G.A. (2019). Non-deep simple morphophysiological dormancy in seeds of *Cuminum cyminum* L. *Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants* 15: 100222. https://doi.org/10.1016/j.jarmap.2019.100222.

35- Vojodi Mehrabani, L., & Valizadeh Kamran, R. (2020). The effects of seed priming on some germination index, enzymatic activity and some physiological traits of *Capparis spinose* and *Kelussia odoratissima*. *Iranian Journal of Seed Science and Research 7*(2): 229-240. (In Persian with English abstract). https://doi.org/10.22124/JMS.2020.4574.

36- Yousefi, F., Siahpoush, A.R, Bakhshandeh, A.A., & Mousavi, S.A. (2021). The effect of hormone seed priming using gibberellic acid on seed germination characteristics and seedling growth of coneflower (*Echinacea purpurea*). *Iranian Journal of Seed Research 8*(1): 173-188. (In Persian with English abstract). https://doi.org/10.52547/yujs.8.1.173.

37- Zandalinas, S.I., Mittler, R., Balfagón, D., Arbona, V., & Gomez ‐ Cadenas, A. (2017). Plant adaptations to the combination of drought and high temperatures. *Physiologia Plantarum 162*(1): 2-12. https://doi.org/0.1111/ppl.12540.